Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Nutrição

Alessandra da Silva Pereira

Avaliação do desempenho de métodos diagnósticos de anemia e deficiência de vitamina A em crianças menores de cinco anos

Rio de Janeiro
2018

Alessandra da Silva Pereira

Avaliação do desempenho de métodos diagnósticos de anemia e deficiência de vitamina A em crianças menores de cinco anos

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Linha de Pesquisa: Determinantes individuais e contextuais do Estado Nutricional e seus impactos na Saúde Coletiva

Orientadora: Inês Rugani Ribeiro de Castro

Coorientadora: Ana Carolina Feldenheimer da Silva

Rio de Janeiro

2018

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CEH/A,

P436 Pereira, Alessandra da Silva
Avaliação do desempenho de métodos diagnósticos de anemia e deficiência de vitamina A em crianças menores de cinco anos / Alessandra da Silva Pereira. - 2018.
130 f.

Orientadora: Inês Rugani Ribeiro de Castro.
Coorientadora: Ana Carolina Feldenheimer da Silva.
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição.

1. Nutrição - Teses. 2. Anemia - Teses. 3. Hemoglobinômetro portátil - Teses. I. Castro, Inês Rugani Ribeiro de. II. Silva, Ana Carolina Feldenheimer da. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Nutrição. IV. Título.

es CDU 612.3

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

_____ _____
Assinatura Data

Alessandra da Silva Pereira

Avaliação do desempenho de métodos diagnósticos de anemia e deficiência de vitamina A em crianças menores de cinco anos

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Linha de Pesquisa: Determinantes individuais e contextuais do Estado Nutricional e seus impactos na Saúde Coletiva

Aprovada em 16 de abril de 2018.

Banca examinadora:

_____
Profª. Drª. Inês Rugani Ribeiro de Castro (orientadora)
Instituto de Nutrição / UERJ

_____
Prof. Drª Flávia Fiorucci Bezerra
Instituto de Nutrição / UERJ

_____
Profª. Drª. Rosane Harter Griep
Escola Nacional de Saúde Pública / Fiocruz Rio de Janeiro

_____
Profª. Drª. Glória Regina da Silva e Sá
Instituto de Saúde Coletiva / UNIRIO

_____
Prof°. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / USP

Rio de Janeiro

2018

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese a meu querido pai, Nildo Bruno, por todo amor e dedicação a mim dispensados. Dedico também ao meu filho, que dia a dia me faz uma pessoa melhor e motivada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, que me guia em todos os caminhos, iluminando minha alma, mente e coração.

Agradeço aos meus pais biológicos, Miriam Gomes da Silva e Waldir Meirelles Pereira (in memoriam) e aos meus pais de criação e coração Nildo Bruno e Eunice da Silva Bruno (in memoriam). Aos primeiros pela oportunidade da vida e aos segundos pela entrega e doação que tiveram comigo ao longo dos meus 37 anos de vida.

Agradeço aos meus familiares, principalmente irmãos e sobrinhos, que sempre torceram por mim, vibrando pelas minhas conquistas. Vocês são incríveis. Agradecimento especial a Valdirene, minha querida irmã que foi fundamental nessa reta final de escrita da tese ao se dedicar ao meu pequeno. Agradeço também minha irmã Simone, por cada palavra de apoio, risadas e boas conversas.

Agradeço a minha querida orientadora Inês Rugani Ribeiro de Castro por tamanha generosidade, atenção, dedicação, carinho, amizade e principalmente pela sua paixão por tudo que faz. Você sempre foi minha inspiração, desde a primeira palestra sua que tive oportunidade de assistir. Obrigada por me fazer parte dessa pesquisa e dessa equipe maravilhosa.

Agradeço a minha querida coorientadora Ana Carolina Feldenheimer por quem sempre tive um carinho inexplicável desde os primeiros contatos, que ela nem deve lembrar, mas foram em Vitória no Conbran. Muito obrigada pelo apoio sempre e por contribuir tanto com sua expertise.

Agradeço a toda equipe de supervisores da Pesquisa Vitanemia. Marta Nehme, Juliana Martins, Patrícia Maia e Letícia Vertulli vocês são incríveis e foi um prazer todos os dias de campo divididos com vocês, bem como todas as reuniões na UERJ e extra-UERJ também. Aprendi e aprendo muito com vocês.

Agradeço ainda a todos os envolvidos os atores envolvidos na pesquisa Vitanemia: Alessandra, Milena, Carine, Cecília e Jorginete vocês são profissionais maravilhosas, fontes de inspiração.

Obrigada aos pesquisadores de campo por toda dedicação e carinho que tiveram na coleta de dados do presente trabalho. Foram dias muito intensos repletos de alegrias, risadas, sufoco, unidade cheia, unidade vazia, mas sempre de muita

felicidade e respeito. Agradeço ainda as secretárias da pesquisa, Roberta e Rita, por todo dedicação e o apoio dado.

Agradeço a todos os membros da banca: Alceu Afonso, Rosane Griep, Glória Regina, Flávia Fiorucci, Letícia Cardoso e Marta Citelli por dispensarem a mim e a presente tese parte de seus preciosos tempo. Obrigada pela atenção e disponibilidade a que se dispuseram.

Obrigada a todos os profissionais da Gerência e das Unidades de Saúde da Secretaria Municipal de Saúde que foram de extrema importância para a realização dessa pesquisa. Obrigada ainda a todos os responsáveis que aceitaram participar do presente estudo, confiando na nossa equipe seus bens maiores, seus filhos, netos, sobrinhos, entre outros. Um agradecimento muito especial a todas as crianças que foram os atores principais do presente trabalho. Estar com vocês fez os nossos dias de campo muito especiais, com todos os sorrisos, abraços, carinho, e nas mordidas, chutes e choros também.

Agradeço a minha querida parceira de longas datas Haydée Serrão Lanzillotti. Querida professora não tenho palavras para agradecer tudo o que fez por mim, na Especialização e no Mestrado, e se hoje estou aqui é porque um dia a senhora acreditou em mim e disse que era possível. Meu muito obrigada, com muito carinho.

Agradeço a muitos mestres que me inspiraram na graduação, como Alcemir, Ana Maria Florentino, Claudia Meirelles, Nelzir Trindade Reis, João Tórtora, entre tantos outros que me fizeram a desenvolver uma paixão tamanha não só profissão, mas pela docência também.

Agradeço a Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, UNIRIO, por ser mais que um local de trabalho, mas o local de trabalho. Obrigada a todos os discentes, docentes e técnicos administrativos da Escola de Nutrição e de outros setores. Vocês são como uma família. Um obrigada especial por fazerem meus dias de trabalho mais suaves, gentis, alegres e felizes.

Agradecimento aos discentes que já passaram e que ainda passarão pelas disciplinas por mim ministradas. Vocês são impulsionadores para nossa formação e atualização, sempre. Obrigada por cada troca, dentro e fora de sala de aula, nos projetos e nos diálogos. Sou muito grata por estar com vocês todos os dias.

Agradecimento ao Departamento de Nutrição Fundamental da UNIRIO pela forma carinhosa e respeitosa que me receberam. Obrigada por terem me apoiado e me dado força nesse momento especial da minha vida acadêmica, bem como meu

muito obrigada pelo carinho e apoio que me deram nos momentos mais difíceis, profissionalmente e pessoalmente. Professores Ana Paula, Marcelo, Luciana Ferreira, Luciana Manhães, Ellen Mayra, Lucia Vasconcelos, Rafael Cadena, Lucília Caldas obrigada por tudo.

Um agradecimento a toda a comunidade acadêmica da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, principalmente do Instituto de Nutrição, pela tamanha excelência no ensino e pesquisa. UERJ Resiste – SEMRE!!!!!

Amigos é família que a gente escolhe. Posso dizer que a minha família é grande e feliz e por essa razão agradeço a todos os meus queridos amigos. Adriana e Marina, obrigada pelas boas conversas e risadas, fundamentais nas pausas de uma escrita e outra. Ângela, minha querida amiga, obrigada por todo o apoio, torcida, por cada palavra amiga. Você é sensacional. Patrícia e Lucio, amigos de longas e felizes datas, lá da graduação!!! Como sou feliz e agradecida por cada momento vivido com vocês! E que venham muitos ainda. Amigas do trabalho e da vida: Claudia, Thais, Giane, meus agradecimentos mais sinceros e profundos por fazerem do meu dia a dia de trabalho mais feliz e divertido! Obrigada querida Fabiana, minha amiga de anos, dos momentos bons e difíceis.

A extinta, infelizmente, Universidade Gama Filho, expresso minha imensa gratidão por me apresentar o Universo infinito da Universidade. Foi ali, em suas dependências, que começaram meus sonhos e que parte deles se realizou. Fui muito feliz ao longo dos quatro anos ali passados e você me formou não somente Nutricionista, mas contribuiu, e muito, para a formação da pessoa e ser humano, Alessandra.

Por fim, agradecimento especial a todos os meus amigos, familiares, alunos, parceiros de trabalhos, parceiros de vida, que de alguma forma contribuiu, contribui e/ou contribuirá para o meu eterno crescimento profissional e evolução pessoal.

Quando eu tinha cinco anos, minha mãe sempre me dizia que felicidade era a chave da vida. Quando fui pra escola, me perguntaram o que eu queria ser quando crescer. Eu escrevi: feliz. Aí disseram que eu não tinha entendido a pergunta e eu respondi que eles não tinham entendido a vida.

John Lennon

RESUMO

PEREIRA, Alessandra da Silva. **Avaliação do desempenho de métodos diagnósticos de anemia e deficiência de vitamina A em crianças menores de cinco anos.** 2018. 126 f. Tese (Doutorado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Introdução: A anemia e a deficiência de vitamina A (DVA) são agravos que apresentam elevada prevalência mundial. Métodos frequentemente utilizados em estudos epidemiológicos sobre esses agravos não tiveram seu desempenho suficientemente avaliado. **Objetivo:** Avaliar o desempenho de dois métodos diagnósticos de anemia (hemoglobinômetro portátil e gota seca) e um método diagnóstico de DVA (gota seca) em crianças menores de cinco anos de idade. **Métodos:** Foram coletadas amostras de sangue venoso e capilar de crianças usuárias do SUS no Rio de Janeiro. O método de referência para hemoglobina foi a análise do sangue venoso por sistema automatizado e dois métodos foram testados – hemoglobinômetro portátil e gota seca, ambos com amostras de sangue capilar. Para o retinol, o método de referência foi análise do retinol sérico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com sangue venoso e o teste foi gota seca de sangue capilar também analisada por CLAE. O estudo de confiabilidade foi realizado por meio da análise da reprodutibilidade quanto à determinação da concentração de hemoglobina e retinol dos métodos testes. Foram feitas análises de concordância das variáveis contínuas utilizando o coeficiente de correlação intraclasse (ICC) e de variáveis categóricas (presença ou não do agravo), utilizando-se os índices Kappa e Kappa ajustado para prevalência e viés do entrevistador (PABAK). A análise da validade consistiu na determinação da sensibilidade, especificidade, índice de acurácia, valor preditivo positivo e negativo dos métodos teste comparados aos métodos de referência no diagnóstico de DVA e anemia. **Resultados:** Participaram do estudo 351 crianças na análise do desempenho do hemoglobinômetro portátil. Na análise do desempenho da gota seca, foram estudadas 235 crianças para retinol e 182 para hemoglobina. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas apenas entre as médias de hemoglobina obtidas pelo hemoglobinômetro portátil (12,04±1,11g/dl) e o sistema automatizado, (11,86±0,97 g/dl; $p<0,005$). O hemoglobinômetro apresentou boa reprodutibilidade do aparelho (ICC = 0,79) e do método (punção, coleta e leitura) (ICC=0,71), concordância razoável (kappa) e boa (PABAK) entre os diagnósticos obtidos pelo método teste. As prevalências de anemia, obtidas pelo método de referência (19,1%) e pelo método teste (19,7%) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. O método teste apresentou maiores especificidade (87,7%) e VPN (88,3%) do que sensibilidade (50,7%) e VPP (49,3%), e índice de acurácia intermediário (57,8%). A gota seca apresentou reprodutibilidade muito boa para retinol (ICC=0,94, kappa=0,83, PABAK= 0,76) e razoável para a hemoglobina (ICC=0,86, kappa=0,69, PABAK=0,69). As prevalências obtidas pelos métodos de referência e teste foram de 11,5% e 11,9%, respectivamente, para DVA e de 19,2% e 46,2% respectivamente, para anemia, apresentando diferenças estatisticamente significativas ($p<0,005$). O método teste apresentou baixa sensibilidade (33%) e VPP (32%) e elevada especificidade (91%) e VPN (92%) para DVA. Para hemoglobina foram observadas razoável sensibilidade (71%), baixo VPP (30%), razoável especificidade (60%) e elevado VPN (90%). Os índices de acurácia foram de 83% para DVA e 62% para anemia. **Conclusão:** No contexto epidemiológico estudado, o hemoglobinômetro portátil foi mais adequado para estimar a prevalência de anemia em coletividades do que para o diagnóstico individual. A gota seca apresentou boa reprodutibilidade tanto para retinol quanto para hemoglobina, porém, validade razoável para o diagnóstico de DVA e baixa para anemia.

Palavras-chave: Anemia. DVA. Hemoglobinômetro portátil. Gota seca. Reprodutibilidade. Validade.

ABSTRACT

PEREIRA, Alessandra da Silva. **Analysis of diagnosis method in anemia and VAD deficiency in child under 5 years old.** 2018. 126 f. Tese (Doutorado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Introduction: Anemia and vitamin A deficiency (DVA) are diseases that have a high global prevalence. Methods frequently used in epidemiological studies on these diseases were not sufficiently evaluated. **Objective:** Evaluate the performance of two diagnostic methods of anemia (portable hemoglobinometer and dry blood spots) and a diagnostic method of DVA (dry blood spots) in children under five years old. **Methods:** Venous and capillary blood samples were collected from children of SUS in Rio de Janeiro. The hemoglobin reference method was the venous blood automated system analysis and two methods were tested - portable hemoglobinometer and dry blood spots, both with capillary blood samples. For retinol, the reference method was serum retinol analysis by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with venous blood and the test was a dry blood spots of capillary blood also analyzed by HPLC. The reliability study was performed by analyzing the reproducibility of the hemoglobin and retinol concentration of the test methods. Concordance analyzes of continuous variables were performed using the intraclass correlation coefficient (ICC) and categorical variables (presence or absence of the disease), using the Kappa and Kappa indices adjusted for the interviewer's prevalence and bias (PABAK). Validity analysis consisted of the determination of sensitivity, specificity, accuracy, positive and negative predictive value of the test methods compared to reference methods in the diagnosis of VAD and anemia. **Results:** 351 children participated in the analysis of the performance of the portable hemoglobinometer. In the analysis of dry drop blood spots, 235 children were studied for retinol and 182 for hemoglobin. Statistically significant differences were observed only between the hemoglobin averages obtained by the portable hemoglobinometer (12,04±1,11 g / dl) and the automated system (11.86 ± 0.97 g / dl, $p < 0.005$). The hemoglobinometer showed good reproducibility of the device (ICC = 0.79) and method reproducibility (puncture, collection and reading) (ICC = 0.71), reasonable (kappa) and good agreement (PABAK) among the diagnoses obtained by the method test. The prevalence of anemia, 19.1% obtained by the reference method (19.1%) and the test method (19.7%) did not present statistically significant differences. The test method presented greater specificity (87.7%) and NPV (88.3%) than sensitivity (50.7%) and PPV (49.3%), and intermediate accuracy index (57.8%). The dry blood spots presented very good reliability for retinol (ICC = 0.94, kappa = 0.83, PABAK = 0.76) and reasonable for hemoglobin (ICC = 0.86, kappa = 0.69, PABAK = 0.69). The prevalence obtained by reference and test methods were 11.5% and 11.9%, respectively, for VAD and 19.2% and 46.2%, respectively, for anemia, presenting statistically significant differences, in second case ($p < 0.005$). The test method presented low sensitivity (33%) and PPV (32%) and high specificity (91%) and NPV (92%) for DVA. Reasonable sensitivity (71%), low PPV (30%), reasonable specificity (60%) and high NPV (90%) were observed for hemoglobin. The accuracy rates were 83% for VAD and 62% for anemia. **Conclusion:** In the epidemiological context studied, the portable hemoglobinometer was more adequate to estimate the prevalence of anemia in children than for the individual diagnosis. The dry blood spots presented good reliability for both retinol and hemoglobin, however, a reasonable validity for the diagnosis of VAD and low for anemia.

Key words: Anemia. VAD. portable hemoglobinometer. dry drop blood. Reproducibility. validity

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Classificação para os valores de Kappa 31
Quadro 1 - Resumo dos estudos que analisaram o desempenho do hemolgobinômetro portátil na determinação das concentrações de hemoglobina e diagnóstico de anemia em crianças. 38
Figura 2 - Fluxo de coleta de sangue capilar para o estudo de validade e reprodutibilidade dos métodos diagnósticos. Rio de Janeiro, 2014..... 51
Figura 3 - Curva padrão do retinol da Gota Seca.....54
Figura 4 - Curva padrão do retinol sérico.....55
Figura 5 - Fluxograma de estudo de reprodutibilidade do Hemocue® no diagnóstico de anemia em crianças. Rio de Janeiro, 2014. 577
Figura 6 - Fluxograma do estudo de validade do HemoCue® na detecção de anemia e da Gota Seca no diagnóstico de anemia e DVA em crianças. Rio de Janeiro, 2014. 588

Artigo 1

Figura 1 - Distribuição da concentração de hemoglobina de três amostras de sangue capilar do método teste em crianças de seis a cinqüenta nove meses. Rio de Janeiro, 2014. 68
Figura 2 - Distribuição da concentração de hemoglobina pelo método referência e teste em crianças de seis a cinqüenta nove meses. Rio de Janeiro, 2014..... 71

Artigo 2

Figura 1 - Distribuição da concentração de retinol sérico e de hemoglobina de duas amostras de sangue capilar da gota seca (método teste) em crianças de seis a cinqüenta nove meses. Rio de Janeiro, 2014. 94
Figura 2 - Distribuição da concentração de retinol sérico e hemoglobina em amostras de sangue venoso analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Cianometahemoglobina (métodos de referência) e amostras de sangue capilar da gota seca (método

teste) em crianças de seis a cinqüenta nove meses – ago / dez, 2014. 95

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 - Concentração de hemoglobina, Coeficiente de Correlação Intraclasse, kappa e kappa ajustado na determinação de hemoglobina e diagnóstico de anemia pelo hemoglobinômetro portátil em crianças de seis a cinqüenta nove meses segundo faixa etária. Rio de Janeiro, 2014. 70

Tabela 2 - Concentração de hemoglobina e prevalência de anemia de acordo com o método de referência e o método teste em crianças de seis a cinqüenta nove meses segundo faixa etária. Rio de Janeiro, 2014. 73

Tabela 3 - Sensibilidade, especificidade, índice de acurácia, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do hemoglobinômetro portátil em comparação com o sistema automatizado na estimativa de anemia em crianças de seis a cinqüenta e nove meses segundo faixa etária. Rio de Janeiro, 2014. 75

Artigo 2

Tabela 1 - Concentração de hemoglobina, medidas de tendência central, de dispersão e prevalência de DVA e anemia de acordo com o método de referência e o método teste em crianças de seis a cinqüenta nove meses segundo faixa etária. Rio de Janeiro, 2014. 96

Tabela 2 - Concentração de retinol sérico e de hemoglobina, Coeficiente de Correlação Intraclasse, Kappa e Kappa ajustado da gota seca de sangue capilar em crianças de seis a cinqüenta nove meses segundo faixa etária. Rio de Janeiro, 2014. 96

Tabela 3 - Sensibilidade, especificidade, índice de acurácia, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo dos métodos teste em comparação com os métodos de referência nas estimativas de DVA e anemia em

crianças de seis a cinqüenta e nove meses segundo faixa etária. Rio de Janeiro, 2014. 98

LISTA DE SIGLAS

AF –	Anemia Ferropriva
AP –	Área Programática
CLAE –	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CCC –	Coeficiente de Correlação de Concordância
CV –	Coeficiente de Variância
DVA –	Deficiência de Vitamina A
EDTA -	Ethylenediamine Tetraacetic Acid
ENDEF –	Estudo Nacional de Despesa Familiar
ENSP –	Escola Nacional de Saúde Pública
ICC –	Intraclass correlation Coefficient
ICHS –	International Council for Standardization in Haematology
INAD –	Instituto de Nutrição Annes Dias
INCA –	Instituto Nacional do Câncer
GSC –	Gota Seca de Sangue Capilar
LFBN –	Laboratório de Fisiopatologia e Bioquímica da Nutrição
LABLIP –	Laboratório de Lípides
NHANES –	National Health and Nutrition Examination Survey
OMS –	Organização Mundial de Saúde
PABAK –	Prevalence Adjusted and Bias Adjusted Kappa
PESN –	Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição
PNDS –	Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde
RBC –	Red Blood Cell
SLS-HGB –	Sodium Lauril Sulfate-hemoglobin
UBS -	Unidade Básica de Saúde
UERJ –	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UNIRIO –	Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
VPN –	Valor Preditivo Negativo
VPP -	Valor Preditivo Positivo
WBC –	White Blood Cell

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO 15
INTRODUÇÃO 17
1 **REFERENCIAL TEÓRICO** 20
1.1 **Metabolismo do Ferro, deficiência de Ferro e Anemia Ferropriva** 20
1.2 **Metabolismo da vitamina a e sua deficiência em crianças menores de cinco anos** 22
1.3 **Técnicas de coleta de sangue e métodos de análise de hemoglobina e retinol** 24
1.3.1 Técnicas de coleta de sangue 24
1.3.2 Métodos de análises de hemoglobina e retinol 25
1.4 **Estimativas de Prevalências de anemia ferropriva e deficiência de vitamina por diferentes métodos de análises** 28
1.5 **Avaliação do desempenho de métodos diagnósticos de anemia ferropriva e DVA** 29
1.5.1 Confiabilidade de testes diagnósticos 30
1.5.2 Validade de testes diagnósticos 32
1.5.3 Validade e reprodutibilidade do hemoglobinômetro portátil e da gota seca no diagnóstico de anemia em pré-escolares 34
1.5.4 Reprodutibilidade e validade da gota seca no diagnóstico de deficiência de vitamina A em pré-escolares 43
2 **JUSTIFICATIVA** 45
3 **OBJETIVOS** 47
3.1 **Geral** 47
3.2 **Específicos** 47
4 **MATERIAIS E MÉTODOS** 48
4.1 **Desenho do estudo e cálculo amostral** 48
4.2 **Coleta das amostras** 49
4.3 **Análises das amostras** 52
4.3.1 Análise de hemoglobina em amostra de sangue venoso 52
4.3.2 Análise do Retinol em amostra de sangue venoso 52
4.3.3 Extração da gota seca contendo amostras de sangue capilar 53

4.3.4 Análise de hemoglobina em amostra de sangue capilar 53
4.3.5 Análise do retinol em amostra de sangue capilar 53
4.3.6 Variáveis de interesse..... 55
4.3.7 Análise dos dados 55
4.3.8 Avaliação da reprodutibilidade dos métodos diagnósticos..... 56
4.3.9 Avaliação da validade dos métodos diagnósticos..... 57
4.4 **Aspectos éticos** 59
5 **RESULTADOS** 60
5.1 **Artigo 1: Reprodutibilidade e validade de Hemoglobinômetro portátil no diagnóstico de anemia em crianças menores de cinco anos** 60
5.2 **Artigo 2: Reprodutibilidade e validade da gota seca de sangue capilar no diagnóstico de deficiência de vitamina a e anemia em crianças menores de cinco anos** 84
CONSIDERAÇÕES FINAIS 104
REFERÊNCIAS 105
APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)..... 115
APÊNDICE B - Termo de assentimento 117
APÊNDCIE C - Planilha de registro do técnico para o valor de hemoglobina (HemoCue®)..... 119
APÊNDICE D - Cartão de retorno dos dados 120
APÊNDICE E - Manual de campo do pesquisador..... 121
ANEXO A - Papel filtro 129
ANEXO B - Parecer do comitê de ética em pesquisa 130

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, C.R.C.; FLORES, H. Improved spectrophotometric vitamin A assay. *Clin Chem*., v.24, n.2, p. 386, 1978.

AZEVEDO E SILVA, A.C.; GÓMEZ, J.F.B.; LUGON, J.R.; GRACIANO, M.L. Detecção de disfunção renal através da dosagem de creatinina em amostra de gota de sangue seca no papel filtro. *J Bras Nefrol.*, v. 38, n. 1, p. 15, 2016.

BHASKARAM, P.; BALAKRISHNA, N.; RADHAKRISHNA, K.V.; KRISHNASWARNY, K. Validation of hemoglobin estimation using Hemocue. *Indian J Pediatr.*, v. 70, n. 1, p. 25-28, 2003.

BEARD, J. Iron deficiency alters brain development and functioning. *J Nutr*., V.5, suppl 1, p. S1468-72, Maio 2003.

BEARD, J. Why Iron Deficiency Is Important in Infant Development. *J Nutr*., v.138, n.12, p. 2534–2536, 2008.

BERK, R. A. Generalizability of behavioral observations: A clarification of interobserver agreement and interobserver reliability. *Am J Ment Defic*., v. 83, n. 5, p. 460-472, 1979.

BLAND, J.M.; ALTAMN, D.G. Statiscal methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *J. Lancet.*, v.8, n.1, p. 307-310, 1986.

BOGHANI, S.; MEI, Z.; PERRY, G.S.; BRITTENHAM, G.M.; COGSWELL, M. Accuracy of Capillary Hemoglobin Measurements for the Detection of Anemia among U.S. Low-Income Toddlers and Pregnant Women. *Nutrients.*, v.9, n.3, p.E253, 2017.

BORGES, L.F.; SIQUEIRA, L.O. Validação de tecnologia 5diff do analisador hematológico Sysmex XS-1000i para laboratório de pequeno/médio porte. Rev*. Bras. Hematol. Hemoter*., v. 31, n.4, p. 247-251, 2009.

BRASIL. Ministério da Fazenda. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estudo nacional da despesa familiar. Rio de Janeiro, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 729, de 13 de maio de 2005. Institui o Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A e dá outras providências. Diário Oficial da União, 16 mai 2005a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 730, de 13 de maio de 2005. Institui o Programa Nacional de Suplementação de Ferro, destinado a prevenir a anemia ferropriva e dá outras providências. Diário Oficial da União, 16 mai 2005b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Cadernos de Atenção básica. Carências de micronutrientes. Brasília: Ministério da Saúde; 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolos do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN na assistência a saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher – PNDS 2006: dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de Condutas Gerais do Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A. Brasília: Ministério da Saúde; 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Suplementação do ferro. Manual de condutas gerais. Brasília: Ministério da Saúde; 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Triagem neonatal biológica. Manual técnico Brasília: Ministério da Saúde; 2016.

BYRT, T.; BISHOP, J.; CARLIN, J.B. Bias, prevalence and Kappa. *J Clin Epidemiol.*, v. 46, n. 5, p. 423-429, 1993.

CABLE, R.G.; STEELE, W.R.; MELMED, R.S.; JOHNSON, B.; MAST, A.E.; CAREY, P.M.; KISS, J.E.; KLEINMAN SH, J.D. The difference between fingerstick and venous hemoglobin and hematocrit varies by sex and iron stores. *Transfusion*., v. 52, n.5, p. 1031-1040, 2012.

CLARCK, S.F. Iron deficiency anemia: diagnosis and management. *Curr. Opin. Gastroenterol.,* v.25, n.2, p. 122-128, 2009

COHEN, A.R.; SEIDL-FRIEDMAN,J. HemoCue® System for Hemoglobin Measurement. *Am J. Clin Pathol*., v. 90, n.3, p. 302-305, 1988.

COUTINHO, G.G.P.L.; GOLONI-BERTOLLO, E.M.; BERTELLI, E.C.P. Iron deficiency anemia in children: a challenge for public health and for society. *Sao Paulo Med J*., v. 123, n.2, p. 88-92, 2005.

CONAWAY, H.H.; HENNING, P.; LERNER, U.H. Vitamin A Metabolism, Action, and Role in Skeletal Homeostasis. *Endocri Rev*., v. 34, n. 6, p. 766-797, 2013.

CRAFT, N.E.; BULUX, J.; VALDEZ, C.; LI, Y. ; SOLOMONS, N. W. Retinol concentrations in capillary dried blood spots from healthy volunteers: method validation*. Am J Clin Nutr*., v.72, n.2, p. 450-454, 2000a.

CRAFT, N.E.; HAITEMA, T.; BRINDLE, L.K.;YAMINI S.; HUMPHREY, J.H.; WEST K.P. JR. Retinol analysis in dried blood spots by high performance liquid chromatography. *J Nutr*., v.130, n.4, p. 882-885, 2000b.

D'AMBROSIO, D.N.; CLUGSTON, R.D.; BLANER, W.S. Vitamin A Metabolism: An Update. Nutrients., v.*3,*n.1, p.63-103, 2011.

DENNIFF, P.; SPOONER, N. The effect of hematocrit on assay bias when using DBS samples for the quantitative bioanalysis of drugs. *Bioanalysis.*, v.2, n.8, p. 1395-95, 2010.

ERHARDT, J.G.; CRAFT, N.E.; HEINRICH, F.; BIESALSKI, H.K.Rapid and simple measurement of retinol in human dried whole blood spots. *J Nutr*., v. 132, n.2, p. 318-21, 2002.
FALLAH, E.; PEIGHAMBARDOUST, S.H. Validation of the Use of Dried Blood Spot (DBS) Method to Assess Vitamin A Status. *Health Promot Perspect.,* v. 2, n. 2, p. 180-189, 2012.

GANESAN, G. A. Detailed study of five Stages of iron deficiency in patients with severe anaemia due to hookworm infection. *IJSRM*, V.4, 2016.

GERALDO, R.R.C.; PAIVA, S.A.R.; PITAS, A.M.C.S.; GODOY, I.; CAMPANA, A.O. Distribuição da hipovitaminose A no Brasil nas últimas quatro décadas: ingestão alimentar, sinais clínicos e dados bioquímicos. *Rev. Nutr*. V.16, n.4, p. 443-460, 2003.

GÓMEZ-SIMON, A.; NAVARRO-NUÑEZ, L.; PÉREZ-CEBALLOS, E.; LOZANO, M.L.; CANDELA, M.J.; CASCALES, A.; MARTÍNEZ, C.; CORRAL, J.; VICENTE, V.; RIVERA, J. Evaluation of four rapid methods for hemoglobin screening of whole blood donors in mobile collection settings. *Transfus Apher Sci*. v. 36, n. 3, 2007.

GRANTHAM-MCGREGOR, S.; CORNELIUS, A. A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. *J Nutr*., v. 131, n.2, p. S649-68, 2001.

GROTTO, H.Z.W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidosem sua homeostase. *Rev. Bras. Hematol*. *Hemoter*.,v.30, n.5, p. 390-97, 2008.

GROTTO, H.Z.W. Fisiologia e metabolismo do ferro. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. v. 32, Supl.2, p. 8-17, 2010.

GUTA, P.M.; PERRINE, C.G.; MEI, Z; SCANLON, K.S. Iron, Anemia, and Iron Deficiency Anemia among Young Children in the United States. Nutrients, V.8, 2016.

GWETU, T.P.; CHHAGAN, M.K.; CRAIB, M.; KAUCHALI, S. Hemocue Validation for the Diagnosis of Anaemia in Children: A Semi- Systematic Review. *Pediat Therapeut*., v.4, n.1, p. 187, 2013.

GWETU, T.P.; CHHAGAN, M.K. Evaluation of the diagnostic accuracy of the HemoCuedevice for detecting anaemia in healthy school aged children in KwaZulu-Natal, South Africa. *S Afr Med J*., v. 105, n.7, p. 596-9, 2015.

HABITCH, J.P. Estandarizacion de métodos epidemiológicos cuantitativos sobre el terreno. *Bol Oficina Sanit Panam,* v.76, n. 5, p. 375-84, 974.

HERMOSO, M.; VUCIC, V.; VOLLHARDT, C.; ARSIC, A.; ROMAN-VIÑAS, B.; IGLESIA-ALTABA, I.; ET AL. The effect of iron on cognitive development and function in infants, children and adolescents: a systematic review. *Ann Nutr Metab*., v. 59, n.2, p. 154-65, 2011.

HESS, D. et al. Simultaneous HPLC of vitamin A, E and carotenoids. *Int. J. Vit. Nutr*. V. 61, p. 232-38, 1991.

HINNOUHO, G.M.; BARFFOUR, M.; WESSELLS, K.R.; BROWN, K.H. et al. Comparison of haemoglobin assessments by HemoCue and two automated haematology analysers in young Laotian children. *J Clin Pathol*, 2017.

HUANG, Y.; CLEMENTS, P.R.; GIBSON, R.A. Robust measurement of vitamin A status in plasma and blood dried on paper. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*., v. 102, p. 31-6, 2015.

International Council for Standardisation in Haematology, ICSH. Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1995) and specifications for international haemiglobincyanide standard. *Clin Pathol*., v. 49, p. 271-274, 1996.

JÁUREGUI-LOBERA, I. Iron deficiency and cognitive functions. *Neuropsychiatri Dis Treat., v.* 10, 2014.

JORDÃO, R.R.; D BERNARDI, J.L.; BARROS FILHO, A.A. Prevalência de anemia ferropriva no Brasil: uma revisão sistemática. *Rev Paul Pediatr*, v.27, n.1, p.90-98, 2009.

KAYRAN, S.M.; OZBEK, N.; TURAN, M.; GURAKAN, B. Significant differences between capillary and venous complete blood counts in the neonatal period. *Clin Lab Haematol.,* v. 25, n. 1, p.9-16, 2003.

KAWAMURA, T. Interpretação de um Teste sob a Visão Epidemiológica. Eficiência de um Teste. *Arq Bras Cardiol*, v. 79, n.4, p. 437-41, 2002.

KOO, T.K.; MAE, Y.L. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med*., v. 15, n.2, p. 155-163, 2016.

LEVY, T.S.; MÉNDEZ-GÓMEZ-HUMARÁN,I,; RUÁN, M.C.M.; TAPIA, B.M.; HERNÁNDEZ, S.V.; HERNÁNDEZ,M. Validation of Masimo Pronto 7 and HemoCue 201 for hemoglobin determination in children from 1 to 5 years of age. *Plos One*. v. 12, n.2, 2017.

LIMA, D.B. Anemia e deficiência de vitamina A em crianças brasileiras. São Paulo, 2014. 126 f. Tese (Doutorado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

LOZOFF, B.; BRITTENHAM, G.M.; WOLF, A.W.; MCCLISH, D.K.; KUHNERT, P.M.; JIMENEZ, E.; ET AL. Iron deficiency and child development. *Food and Nutrition Bulletin,* v. 28, n.4, p. 981-95, 2007.

LOZOFF, B. Early iron deficiency has brain and behavior effects consistent with dopaminergic dysfunction. *J Nutr.*, v. 14, n. 4, p. 740S- 746S, 2011.

MALTA, D.C.; SANTOS, M.A.S.; STOPA, S.R.; VIEIRA, J.E.B.; MELO, E.A.; REIS, A.A.C. A Cobertura da Estratégia de Saúde da Família (ESF) no Brasil,segundo a Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. *Ciênc. Saúde Colet.*, v. 21, n. 2, p. 327-338, 2016.

MARTINS, M.C.; OLIVEIRA, Y.P.; COITINHO, D.C.; SANTOS, L.M.P. Panorama das ações de controle da deficiência de vitamina A no Brasil. *Rev. Nutr.,* v. 20, n. 1, p. 5-18, 2007.

MASON, J.B.; LOTFI, M.; DALMIYA, N.; SETHURAMAN, K.; DEITCHLER, M. The micronutrient report: current progress and trends in the control of vitamin A, iodine, and iron deficiencies. Ottawa, Canada: The Micronutrient Iniciative/Unicef; 2001.

MATTA, I.E.A.; VEIGA, G.V.; BAIÃO, M.R.; SOUZA SANTOS, M.M.A.S.; LUIZ, R.R. Anemia em crianças menores de cinco anosque freqüentam creches públicas do município do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.,* v. 5, n. 3, p. 349-357, 2005.

MEDRONHO, R.; BLOCH, K.V.; LUIZ, R.R.; WERNECK, G.L. Epidemiologia. Atheneu, São Paulo, 2009, 2ª Edição.

MEJIA, L.A.; ARROYAVE, G. Biological interrelation between vitamin A and iron. *Arch Latinoam Nutr.*, v. 32, n. 1, p. 32-7, 1982.

MIGLIOLI , T.C.; FONSECA , V.M.; GOMES JUNIOR, S.C.; CABRAL DE LIRA, P.I.; BATISTA FILHO, M. Deficiência de Vitamina A em mães e filhos no Estado de Pernambuco. *Ciênc. Saúde Colet.*, v.18, n. 5, p. 1427-1440, 2013.

MILAGRES, R.C.R.M.; NUNES, L.C.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. A deficiência de vitamina A em crianças no Brasil e no mundo. *Ciênc. Saúde Colet*, v. 12, n. 5, p. 1253-1266, 2007.

MILLS, A.F.; MEADOWS, N. Screening for anaemia: evaluation of a Haemoglobinometer. *Arch Dis Child*. v. 64, n. 10, p. 1468-71, 1989.

MOBIUS, K.; ARIAS-CARTIN, R.; BRECKAU, D.; HNNIG, A.L.; RIEDMANN, K.; BIEDENDIECK, R.; SCHRODER, S.; BECHER, D.; MAGALON, A.; MOSER, A.; JAHN, M.; JAHN, D. Heme biosynthesis is coupled to electron transport chains for energy generation. *Proc. Natl. Acad. Sci*., v.107, n.23, p. 10436–10441, 2010.

MORA, J.O.; GUERI, M.; MORA, O.L. Vitamin A deficiency in Latin America and the Caribbean: an overview. *Rev Panam Salud Publica*., v. 4, n.3, p. 178-86, 1998.

MORA, J.O.; IWATA, M.; VON ADRIAN, U.H. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. J. *Nat Rev Immunol*., v.8, n.9, p. 685-98, 2010.

MORRIS, S.S.; RUEL, M.T.; COHEN, R.J.; DEWEY, K.G.; BRIÈRE, B.; HASSAN, M.N. Precision, accuracy, and reliability of hemoglobin assessment with use of capillary blood. *Am J Clin Nutr*., v. 69, p. 1243-8, 1999.

NETTO, M.P.; PRIORE, S.E.; FRANCESCHINI. Interação entre vitamina A e ferro em diferentes grupos populacionais. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.,* v.7, n.1, p. 15-22, 2007.

NEUFELD, L.; GARCÍA-GUERRA, A.; SÁNCHEZ-FRANCIA, D.; NEWTON-SÁNCHEZ, O.; MARÍA DOLORES RAMÍREZ-VILLALOBOS, M.D.; RIVERA-DOMMARCO, J. Hemoglobin measured by Hemocue and a reference method in venousand capillary blood: A validation study. *Salud Pública de México*, v.44, n.3,, p. 219-227, 2002.

NKRUMAH, B.; NGUAH, S.B.; SARPONG, N.; DEKKER, D.; IDRISS, A.; MAY, J.; ADU-SARKODIE, Y. Hemoglobin estimation by the HemoCue® portable hemoglobin photometer in a resource poor setting. *BMC ClinPathol*., v.11, n. 5, 2011.

OLIVERA, R.W.; KAFWEMBE, E.M.; MWANDU, D. Stability of vitamin A circulating complex in spots of dried serum samples absorbed into filter paper*. Clin Chem*. V.39, n.8., p. 1744-1745, 1993.

OLIVEIRA, C.S.M.; AUGUSTO, R.A.; MUNIZ, P.T.; SILVA, S.A.; CARDOSO, M.A. Anemia e deficiência de micronutrientes em lactentes atendidos em unidades básicas de saúde em Rio Branco, Acre, Brasil. *Ciênc. Saúde Colet.*, v. 21, n.2, p. 517-529, 2016.

OSORIO, M.M. Fatores determinantes da anemia em crianças. *J. Pediatr.*, v.78, n. 4, p. 269-278, 2002.

OZDEMIR, N. Iron deficiency anemia from diagnosis to treatment in children. *Türk Ped Arş*., v.50, n.1, p. 11-19, 2015.

PAIVA, A.A.; RONDÓ, P.H.C.; GUERRA-SHINOARA, E.M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. *Rev Saúde Pública*., v.34, n.4, p. 421-426, 2000.

PAIVA, A.A.; RONDÓ, .P.H.C.; SILVA, S.S.B.; LATORRE, M.R.D.O. Comparison between the HemoCue® and an automated counter for measuring hemoglobin. *Rev Saude Publica*., v.38, n.4., p. 585-587, 2004.

PAIVA, A.A.; RONDÓ, P.H.C.; GONÇALVES-CARVALHO, C.M.R.; ILLISON, V.K.; PEREIRA, J.A.; VAZ-DE-LIMA, L.A.; OLIVEIRA, C.A..; UEDA, BERGAMASCHI, D.P. Prevalência de deficiência de vitamina A e fatores associados em pré-escolares de Teresina, Piauí, Brasil*. Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v.22, n.9, p. 1979-1987, 2006.

PATEL, A.J.; WESLEY, R.; LEITMAN, S.F.; BRYANT, B.J. Capillary versus Venous Hemoglobin Determination in the Assessment of Healthy Blood Donors. *Vox Sang.*, V.104, n.4, p. 317-323, 2013.

QUEIROZ, D.; PAIVA, A.A.; DIXIS FIGUEROA PEDRAZA, D.F.; CUNHA, M.A.L.; ESTEVES, G.H.; LUNA, J.G.; DINIZ, A.S. Defi ciência de vitamina A e fatores associados em crianças de áreas urbanas. *Rev Saúde Pública*., v.47, n. 2, p. 248-256, 2013.

RAMALHO, R.A.; FLORES, H.; SAUNDERS C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. *Rev Panam Salud Publica*., v. 12, n. 2, p. 117-122, 2002.

ROSENBLIT, J.; ABREU, C.R.; SZTERLING, L.N.; KUTNER, J.M.; HAMERSCHLAK, N.; FRUTUOSO, P.; T.R.S.S.; ORLANDO DA COSTA FERREIRA JÚNIOR, O.C. Evaluation of Three Methods for Hemoglobin Measurement in a Blood Donor Setting. *Rev Paul Med*., v.117, n.3, p. 108-112, 1999.

SANTOS, L.M.P.; ASSIS, A.M.O.; MARTINS, M.C.; MARIA P.N. ARAÚJO, M.P.N.; SAUL, MORRIS, S.S.; BARRETO, M.L. Situação nutricional e alimentar de pré-escolares no semi-árido da Bahia (Brasil): II – Hipovitaminose A. *Rev. Saúde Pública*., v. 30, n. 1, p. 67-74, 1996.

SANTOS, A.R. A rede laboratorial de saúde pública e o SUS. IESUS, 1997

SARI, M.; DE PEE, S.; MARTINI, E.; HERMAN, S. SUGIATMI, BLOEM M.W.; YIP, R. Estimating the prevalence of anaemia: a comparison of three methods. *Bull World Health Organ.,* v. 79, n. 6, p. 506-511, 2001.

SAUNDERS, C.; RAMALHO, A.; PADILHA, P.C.; BARBOSA, P.C.; LEAL, M.C. A investigação da cegueira noturna no grupo materno-infantil: uma revisão histórica. *Rev. Nutr*., v.20, n.1, p. 95-105, 2007.

SHAH,N.; OSEA, E.A.; , MARTINEZ, G.J. Accuracy of noninvasive hemoglobin and invasive point-of-care hemoglobin testing compared with a laboratory analyzer. *Int. J. Lab. Hem.*, v. 36, n.1, p. 56-61, 2014.

SHI, H.; MA, Y.; HUMPHREY, J.H.; CRAFT, N.E. Determination of vitamin A in dried human blood spots by high-performance capillary electrophoresis with laser-excited fluorescence detection. *J Chromatogr B Biomed Appl*., v.665, n.1, p. 89-96, 1995.

SILVA, R.C.; ASSIS, A.M.O.; SANTANA, M.L.P.; BARRETO, M.L.; BRITO, L.L.; REIS, M.G.; PARRAGA, I.M.; BLANTON, R.E. Relação entre os níveis de vitamina A e os marcadores bioquímicos do estado nutricional de ferro em crianças e adolescentes. *Rev. Nutr.,* v. 21, n. 3, p. 285-291, 2008.

SILVA, L.L.S.; PEIXOTO, M.R.G.; HADLER, M.C.C.M.; SILVA, S.A.; COBAYASHI, F.; CARDOSO, M.A. Estado nutricional de vitamina A e fatores associados em lactentes atendidos em Unidades Básicas de Saúde de Goiânia, Goiás, Brasil. *Rev Bras Epidemiol.,* v. 18, n.2, p. 490-502, 2015.

STEPHENSEN, C.B. Vitamin A, infection and immune function. *Ann Rev Nutr*, v. 21, p. 167-192, 2001.

SRIVASTAVA,T.; NEGANDHI, H.; NEOGI, S.B.; SHARMA, J.; SAXENA, R. Methods for Hemoglobin Estimation: A Review of “What Works”. *Hematol Transfus*, v.2, n.3, p. 1028, 2014.

STREINER, D.L.; NORMAN, G.R.HEALTH Measurement Scales. A practical guide to their development and use. 4.ed. Oxford University Press: New York, 2008.

STEVENS, G.A.; BENNET, J.E.; HENNOCG, Q.; LU, Y.; DE-REGIL, L.M.; ROGERS, L.; DANAEI, G.; LI, G.; WHITE, R.A.; FLAXMAN, S.R.; OEHRLE, S.P.; FINUCANE, M.M., GUERRERO, R.; BHUTTA, Z.A.; THEN-PAULINO, A.; FAWZI, W.; BLACK, R.E.; EZZATI, M. Trends and mortality effects of vitamin A deficiency in children in 138 low-income and middle-income countries between 1991 and 2013: a pooled analysis of population-based surveys. *Lancet Glob Health*. v.3, n.9, p. 528-536, 2015.

SZKLO, M.; NIETO, F.J. Epidemiology Beyond the Basics. 2.ed. Sudbury: Jones and Barlett Publishers, 2007.

TAKAMI, T.; SAKAIDA, I. Iron regulation by hepatocytes and free radicals. *J Clin. Biochem. Nutr.,* v. 48, n. 2, p. 103-106, 2011.

TANUMIHARDJO, S.A.; RUSSELL, R.M.; STEPHENSEN, C.B.; BRYAN M GANNON, B.M.; NEAL E CRAFT, N.E.; HASKELL, M.J.; LIETZ,G.; SCHULZE,K.; RAITEN12, D.J. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND) - Vitamin A Review. *J Nutr.,* v. 146, n. 9, p. 1816-1848, 2016.

TANSARLI, G.S.; KARAGEORGOPOULOS, D.E.; KAPASKELIS, A., GKEGKES I, FALAGAS ME. Iron deficiency and susceptibility to infections: evaluation of the clinical evidence. *Eur J ClinMicrobiol Infect Dis*., v. 32, n.10, p. 1253-1258, 2013.

TIMMERMAN, P.; WHITE, S.; GLOBIG, S.; LÜDTKE, S.; BRUNET, L.; SMERAGLIA, J. E.B.F. Recommendation on the validation of bioanalytical methods for dried blood spots. *Bioanalysis*., v. 3, n. 14, p. 1567-1575, 2011.

TOMKINS, A.M.; BEHRENS, R.; ROY, S. The role of zinc and vitamin A deficiency in diarrhoeal syndromes in developing countries. *Proc Nutr Soc.,* v.52, n.1, p. 131-142, 1993.

UMBELINO, D.C.; ROSSI, E.A. Deficiência de ferro: conseqüências biológicas e propostas de prevenção. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.,* v. 27, n.2, p.103-112, 2006.

VELASQUEZ-MELENDEZ, G.; OKANI, E.T.; KIERTSMAN, B.; RONCADA, M.J.Níveis plasmáticos de vitamina A, carotenóides e proteína ligadora de retinol em crianças com infecções respiratórias agudas e doenças diarréicas. *Rev Saúde Pública.*, v.28, n.5, p. 357-364, 1994.

VIANA, M.B. Anemia and infection: a complex relationship. *Rev Bras Hematol Hemoter.* V. 33, n.2, p. 90-92, 2011.

VIEIRA, R.C.S.; FERREIRA, H.S. Prevalence of anemia in Brazilian children in different epidemiological scenarios. *Rev Nutr.*, v. 23, n.3, p. 433-444, 2010.

VIDALHEIT, M.; RIEU, D.; FEILLET, F.; BOCQUET, A.; CHOURAQUI, J.P.; DARMAUN, D.; DUPONT, C.; FRELUT, M.L.; GIRARDET, J.P.; HANKARD, R.; ROZE, J.C.; SIMEONID, U.; TURCKJ, D.; BRIENDK, A. Vitamin A in pediatrics: An update from the Nutrition Committee of the French Society of Pediatrics. *Arch Pediatr*., v. 24, n. 3, p. 288-297, 2017.

VON SCHENCK, H.; FALKENUON, M.; LUNDBERG, B. Evaluation of " HemoCue," a new device for determining hemoglobin. *Clin Chem*., v.32, n.3, p. 526-529, 1986.

WALDVOGEL-ABRAMOWSKI, S.; WAEBER, G.; GASSNER, C.; BUSER, A., FREY, B.M.; FAVRAT, B.; TISSOT, J.D. Physiology of Iron Metabolism. *Transfus Med Hemother.,* v.41, n.3, p. 213-221, 2014.

WALTER, T.; OLIVARES, M.; PIZARRO, F.; MUÑOZ, C. Iron, Anemia, and Infection. Nutrition Reviews, Vol. 55, No. 4, p. 11-124, 1997.

WEST, K.P. JR; STEVEN C.; LECLERQ, S.C.; SHARADA R. SHRESTHA, S.R.; WU, L.S.; PRADHAN, E.K.; SUBARNA K. KHATRY, S.K.; JOANNE KATZ, J.; RAMESH ADHIKARI, R.; SOMMER, A. Effects of Vitamin A on Growth of Vitamin A-Deficient Children: Field Studies in Nepal. *Jour Nutr*, v.127, n.10, p. 1957-1965, 1997.

WEST, K.P. JR.; KLEMM, R.D.W.; SOMMER, A. Vitamin A saves lives: sound science, sound policy. *World Nutrition.,* v.1, n.5, p. 211-229, 2010.

WITTENMEIER E.; BELLOSEVICH,S.; MAUFF, S.; SCHIMIDTMANN, I.; ELI, M.; PESTEL.G.; NOPPENS, R.R. Comparison of the gold standard of hemoglobin measurement with the clinical standard (BGA) and noninvasive hemoglobin measurement (SpHb) in small children: a prospective diagnostic observational study. *Paediatr Anaesth*., v. 25, n. 10, p. 1046-1053, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva: World Health Organization; 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Vitamin A supplementation a decade of progress. Geneva: World Health Organization; 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005: WHO global database on vitamin A deficiency. Geneva: World Health Organization; 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Serum retinol concentrations for determining the prevalence of vitamin A deficiency in populations. Geneva: World Health Organization; 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The global prevalence of anemia in 2011.Geneva: World Health Organization; 2015.
ZAVALETA, N.; ASTETE-ROBILLIARD, L. EFECTO DE LA ANEMIA EN EL DESARROLLO INFANTIL: CONSECUENCIAS A LARGO PLAZO. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.,* V. 34, N.4, 2017.

ZHANG, C. Essential functions of iron-requiring proteins in DNA replication, repair and cell cycle control. *Protein Cell*, v. 5, n. 10, p. 750-760, 2014.

ZHOU, K.; YAN, H.; XING, Y.; DANG, S.; ZHUOMA, B.; WANG, D. Evaluation of a portable hemoglobin photometer in pregnant women in a high altitude area: a pilot study. *BMC Public Health*, v.9, n. 228, p. 2009.